

## 磁珠法血凝块基因组DNA提取试剂盒

### MagBeads Blood Clot Genomic DNA Extraction Kit

【目录号】BCDE-5005、BCDE-5010、BCDE-5030、BCDE-5100

【运输条件】2~25℃；

【保存条件】磁珠悬浮液 4℃；蛋白酶K -20℃；其它组分室温；

【试剂盒组成】

Kit Component 试剂盒组成	BCDE-5005 (50T)	BCDE-5010 (100T)	BCDE-5030 (300T)	BCDE-5100 (1000T)
① BCDE Magnetic Beads 磁珠悬浮液	3mL	6mL	18mL	60mL
② RBC Lysis Buffer 红细胞裂解液	100mL	200mL	600mL	1000mL*2
③ BCDE Buffer ML 裂解液	20mL	40mL	120mL	400mL
④ BCDE Wash Buffer 1 清洗液 1	30mL	60mL	180mL	600mL
⑤ BCDE Wash Buffer 2 清洗液 2-浓缩液	8mL (加入 32mL 无水乙醇)	15mL (加入 60mL 无水乙醇)	45mL (加入 180mL 无水乙醇)	150mL (加入 600mL 无水乙醇)
⑥ Dealcohol Buffer 除醇液	20mL	40mL	120mL	400mL
⑦ Proteinase K 蛋白酶 K	1.5mL	3mL	9mL	30mL
⑧ Elute Buffer 洗脱液	10mL	20mL	60mL	200mL

【注意事项】

1. 磁珠悬浮液（组分①）严禁反复冻融，以免磁珠受到损害，使用前务必充分摇匀；
2. 清洗液2（组分⑤）为浓缩液，用户需按照试剂瓶上提示加入无水乙醇，稀释备用；
3. 蛋白酶K（组分⑦）长期保存于-20℃，避免反复冻融；融化后4℃保存，并尽快使用；
4. 本试剂盒可配合英芮诚ETP-300型核酸提取仪实现高通量工作，亦适用于手动法操作；

5. 本操作指南经公司反复验证，使用前请仔细阅读，并且按照操作指南操作。

### 【产品简介】

本试剂盒适用于从无抗凝剂的血凝块或其它原因造成的血凝块中提取基因组DNA。在裂解液（BCDE Buffer ML）环境中，基因组DNA特异性的结合于磁珠表面，经清洗和洗脱等步骤之后，可得到高纯度的基因组DNA产物， $OD_{A260/280}$ 比值在1.7~1.9之间， $OD_{A260/230}$ 比值大于1.8，基因组DNA完整性好，可直接用作PCR、QPCR、杂交、文库制备、测序等下游分子生物学实验，整个操作过程简便、快速、高效。本试剂盒可配合自动化核酸提取仪或工作站使用，实现高通量提取。

### 【试剂盒说明】

样本类型	样本量	核酸得量范围
血凝块	800 $\mu$ L	5~50 $\mu$ g

### 【自备仪器、耗材和试剂】

**仪器自动版：**组织研磨仪、涡旋混合仪、水浴锅或金属浴、英芮诚ETP-300型核酸提取仪（或其它品牌磁棒法核酸提取仪）、96孔方孔圆底板、无水乙醇、80%乙醇、异丙醇。

**手动版：**组织研磨仪、涡旋混合仪、水浴锅或金属浴、EP管（2.0mL）、磁力架、无水乙醇、80%乙醇、异丙醇。

### 【手动版操作步骤】

#### 1. 样本前处理及裂解

- 1) 向 EP 管中加入 800 $\mu$ L 血凝块样本，室温用组织研磨仪将血凝块磨碎；
- 2) 向 EP 管中加入 1mL 红细胞裂解液，颠倒混匀 10 次，静置 3min。然后 12000rpm 离心 2min，小心弃去上层液体保留底部沉淀；
- 3) 向 EP 管中再次加入 1mL 红细胞裂解液，轻弹 EP 管重悬沉淀，静置 3min，12000rpm 离心 2min，小心弃去上层液体保留底部沉淀；
- 4) 向 EP 管中加入 400 $\mu$ L 裂解液和 30 $\mu$ L 蛋白酶 K，涡旋振荡约 1min 充分分散沉淀至无明显固状物，58 $^{\circ}$ C 加热裂解 35min，每隔 5min 摇晃混匀一次；
- 5) 裂解完毕后，低速瞬离使 EP 管内液体集中至 EP 管底，待用。

#### 2. 核酸结合

向裂解完毕EP管中加入60 $\mu$ L磁珠悬浮液（提前摇晃均匀）和400 $\mu$ L异丙醇，涡旋振荡5min，然后静置2min。

#### 3. 磁性分离

将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全。如EP管内盖有残留磁珠液，可保持EP管在磁力架上，整体上下颠倒2~3次至磁珠吸附完全。保持EP管固定于磁力架上，用移液枪吸弃上清液，期间避免接触磁珠。

#### 4. 清洗

1) 向 EP 管中加入 600 $\mu$ L 清洗液 1，将 EP 管从磁力架上取下，手弹分散磁珠后涡旋震荡 2min，磁性分离（参照步骤 3 操作）。

*注：若此步骤磁珠出现团聚现象，是因为DNA含量多引起，不影响核酸提取结果。*

2) 使用 600 $\mu$ L 80%乙醇，参照步骤 4(1)操作 1 次。

3) 使用 600 $\mu$ L 清洗液 2，参照步骤 4(1)操作 1 次。

#### 5. 除醇（如下方法任选其一）

**方法1：**将除尽上清液后的EP管置于磁力架上，一同放入45 $^{\circ}$ C真空干燥箱中，干燥约10min至无明显乙醇味。

*注：亦可置于通风橱通风或电风扇直吹约10min，具体时间以磁珠干透无乙醇味为准。*

**方法2：**将除尽上清后的离心管保持在磁力架上，加入400 $\mu$ L除醇液，快速手摇润洗吸附的磁珠表面，之后快速弃去除醇液。

*注：该步骤操作时间不宜过长，且不可吹散磁珠，否则影响核酸得量。*

#### 6. 核酸洗脱

取出EP管，加入50~200 $\mu$ L洗脱液，用移液枪吹散磁珠，将EP管置于58 $^{\circ}$ C环境中加热洗脱10min，每隔3min涡旋振荡30s。

#### 7. 核酸转移

将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，用移液枪将洗脱液转移至另一干净EP管中，提取过程完毕，此时可弃去磁珠。

#### 【仪器自动提取操作步骤】

以英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪为例，可同步完成32份样本提取工作。

#### 1. 96 孔板准备

参照下表用量向96孔板各孔位中分别加入相应试剂：

样品位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液 60 $\mu$ L 清洗液 1 600 $\mu$ L 异丙醇 100 $\mu$ L	异丙醇 400 $\mu$ L	80%乙醇 600 $\mu$ L	清洗液 2 600 $\mu$ L (已加入无水乙醇)	除醇液 400 $\mu$ L	洗脱液 50~200 $\mu$ L

注：1) 每次吸取磁珠悬浮液前尽量摇晃均匀；2) 为提高效率建议使用排枪；3) 试剂加板完毕请尽快使用，防止醇挥发导致结果波动。

## 2. 样本前处理及裂解

参考【手动版操作步骤】步骤1进行操作。

## 3. 上机提取

将步骤2完成的裂解液（最大550 $\mu$ L）转移至96孔板第2/8列孔位；将上样完毕96孔板放入ETP-300型核酸提取仪中，插入磁棒套，启动仪器操作软件，调用“血凝块DNA提取”程序，单击“运行”执行程序。

“血凝块DNA提取”程序各参数设置如下，如仪器上程序参数与说明书不一致，请以说明书为准：

步骤编号	孔位	运行类型	振荡时间(秒)	分离时间(秒)	挥发时间(秒)	振荡幅度	振荡强度	一组温度	二组温度	三组温度	四组温度
1	1	磁珠转移	2	1	0	5	强	0	0	0	0
2	2	DNA结合	360	1	0	4	中	0	0	0	0
3	1	清洗1	240	1	0	5	强	0	0	0	0
4	2	DNA结合	540	1	0	4	中	0	0	0	0
5	1	清洗1	240	1	0	5	强	0	0	0	0
6	3	80%乙醇	180	1	0	5	强	0	0	0	0
7	4	清洗2	120	1	0	5	强	0	0	0	0
8	5	除醇	0*	2	0	3	弱	0	0	0	0
9	6	洗脱	360	30	0	3	中	60	60	60	60
10	3	弃磁珠	10	0	0	5	强	0	0	0	0

注：如需获得所有DNA片段，包括已经降解的DNA片段，请将“\*”标注的参数设定为“0”，DNA产物凝胶电泳表现为可能有弥散（弥散程度取决于样本降解程度），OD值显示浓度较高；如果只研究基因组DNA主带，忽略因降解引起的DNA片段，请将“\*”标注的参数设定为“5”，DNA产物凝胶电泳表现为几乎没有弥散，OD值显示浓度较低。

## 4. 核酸转移

程序运行完毕，取下96孔板，将洗脱液转移至干净的EP管或者PCR板中，提取过程完毕，此时可以弃去96孔板。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南所有权利。版本：V201811.291

英芮诚生化科技（上海）有限公司

地址：上海市杨浦区国权北路1688号湾谷科技园A8座303室

电话：021-55809378

网址：www.bio-enriching.com

电子邮件：marketing@bio-enriching.com